

## DESOXYAMAROGENTIN EIN NEUER BITTERSTOFF AUS *GENTIANA PANNONICA*, SCOP.

HILDEBERT WAGNER und KEYVAN VASIRIAN

Institut für pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München

(Eingegangen 2. September 1973. Angenommen 20. September 1973)

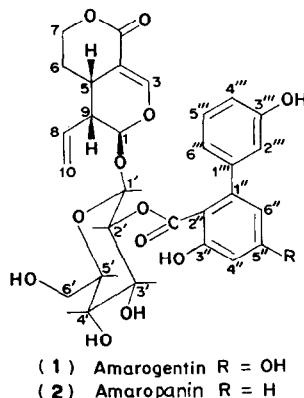
**Key Word Index**—*Gentiana pannonica*; gentianaceae; desoxy amarogentin (amaropanin); secoiridoid glucoside.

**Abstract**—From the roots of *Gentiana pannonica*, Scop. a new strongly bitter secoiridoid acyl glucoside (amaropanin) was isolated and identified as desoxy amarogentin (sweroside-2',3",3"-dihydroxydiphenyl-2-carboxyl acid ester). Amaropanin is chromatographically detectable also in the roots of *G. purpurea* L. and *G. punctata* L.

CHROMATOGRAPHISCHE und sensorische Untersuchungen in der Gentianaceen-Familie lieferten Hinweise auf das Vorliegen weiterer Bitterstoffe außer den von Korte<sup>1</sup> und Inouye<sup>2-4</sup> isolierten und strukturell aufgeklärten Monoterpenglykosiden Gentiopikrin, Amarogentin (1), Amaroswerin, Swertiamarin und Swerosid. Aus der Wurzel von *Gentiana pannonica*, Scop. haben wir durch Methanol-Extraktion, Lösungsmittel-Anreicherung und Säulenchromatographie eine bisher noch nicht beschriebene Verbindung (Amaropanin = 2) isolieren können, die etwa 1/3 des bitteren Geschmackes von Amarogentin aufwies.

### Die Struktur von Amaropanin

Amaropanin 2 kristallisiert aus Chloroform/Benzol in Form farbloser Nadeln, C<sub>29</sub>H<sub>30</sub>O<sub>12</sub> vom Schmp. 178° und der optischen Drehung [α]<sub>D</sub><sup>26</sup> -101,25° (MeOH). Das UV-Spektrum mit den Absorptionen bei 210 und 315 nm (log ε 4,39 und 3,48) und einer



<sup>1</sup> KORTE, F. (1955) *Chem. Ber.* **88**, 704; *ibid.* (1956) **89**, 2404.

<sup>2</sup> INOUYE, H., UEDA, S. und NAKAMURA, Y. (1966) *Tetrahedron Letters* 5229.

<sup>3</sup> INOUYE, H., YOSHIDA, T., NAKAMURA, Y. und TOBITA, S. (1970) *Chem. Pharm. Bull.* **18**, 1856; (1968) *Tetrahedron Letters* 4429.

<sup>4</sup> INOUYE, H. und NAKAMURA, Y. (1971) *Tetrahedron* **27**, 1951.

Schulter bei 240 nm und das IR-Spektrum (KBr) mit den Hauptbanden bei 3400, 1680 (Lactonbande), 1600 ( $\geq C=C \leq$ ), 1580, 1430, 980, 930, 890, 810, 783 und 700  $\text{cm}^{-1}$  entsprechen denen von Amarogentin und deuten auf das Vorliegen eines Phenolcarbonsäureesters. **2** liefert bei der Acetylierung mit Essigsäureanhydrid-Pyridin ein Pentaacetat vom Schmp. 79°. Das NMR-Spektrum ( $d_6$ -Aceton) deckt sich im Secoiridoid- und Zuckerteil in der Protonenzahl vollständig und in der Lage der Signale weitgehend mit dem des Amarogenins. Der Aromatenbereich integriert für 1 Proton mehr (insgesamt 7 Protonen) als im Amarogentin. Da gleichzeitig das Signal für die  $C_5\text{-OH}$ -Gruppe im Bereich von  $\delta = 9,2$  fehlt, sollte im Amaropanin ein Desoxy-Amarogentin vorliegen. Die Bestätigung liefert das Massenspektrum des Amaropaninacetates (siehe Zerfallsschema). Die CD-Kurve des Amaropanins mit positiven Cottoneffekten bei 317 und 226 nm und einem negativen bei 252 nm deckt sich wiederum mit der des Amarogenins. Damit dürfte das Amaropanin auch der gleichen stereochemischen Reihe wie das Amarogentin angehören.

Chromatographisch ist Amaropanin auch in den Wurzeln von *Gentiana purpurea* L. und *G. punctata* L. nachweisbar. In *Gentiana lutea* fehlt es gänzlich.

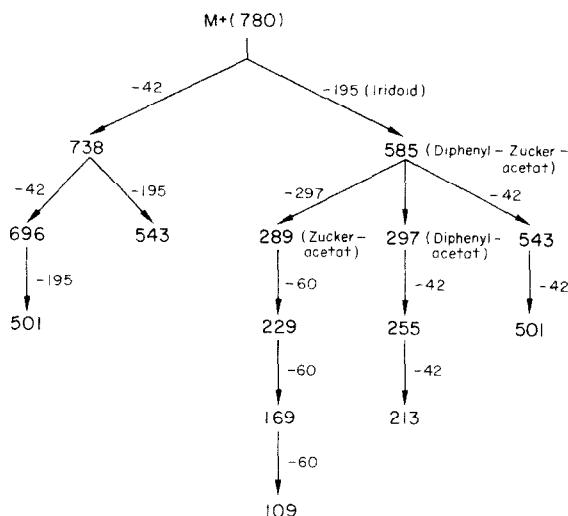


ABB. 1. ZERFALLSSCHEMA DES AMAROPANINACETATES.

### EXPERIMENTELLES

Das Pflanzenmaterial wurde im August 1972 in den nördlichen Kalkalpen im Raum Berchtesgaden (Bayern) gesammelt. Das UV-Spektrum wurde mit einem Beckman DK-2, das IR-Spektrum mit einem Beckman IR-8, die NMR-Spektren mit einem Varian HA-100 und das Massenspektrum mit einem MS-30 Fa. AEI aufgenommen.

*Isolierung von Amaropanin (Desoxyamarogentin = 2).* 500 g frische Wurzeln von *Gentiana pannonica*, Scop. wurden zerkleinert und 5mal hintereinander in der Kälte mit je 1 l. MeOH im Braun-Mixer 5 Minuten lang extrahiert. Die gesamte Lösungsmittelmenge wurde im Vakuum eingeengt, der Rückstand in etwa 1 l.  $\text{H}_2\text{O}$  aufgenommen und nacheinander mit 1 l. Benzol,  $\text{CHCl}_3$  und  $\text{ÄtOAc}$  in Anteilen ausgeschüttelt. Die vereinigten  $\text{CHCl}_3$  und  $\text{ÄtOAc}$  Phasen wurden zur Trockene gebracht, der Rückstand in 10 ml MeOH aufgenommen, auf 5 g Kieselgel aufgezogen und das Lösungsmittel im Vakuum abgedampft. Die extraktthaltige Kieselgelmenge wurde auf eine mit 150 g gefüllte Kieselgel (60 mesh) Säule von 2,5 cm Ø aufgetragen und nacheinander mit je 750 ml  $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{CHCl}_3\text{-MeOH}$  (97:3),  $\text{CHCl}_3\text{-MeOH}$  (93:7) und  $\text{CHCl}_3\text{-MeOH}$  (90:10) entwickelt.

Die ersten aus der Säule austretenden 1.5 l. Eluat waren nicht bitter und wurden verworfen. Anschließend wurde in 10 ml-Portionen fraktioniert. Die Hauptmenge an Amaropanin befand sich laut DC in den mit  $\text{CHCl}_3$ -MeOH (9:1) erhaltenen Eluaten. Aus den vereinigten Amaropanin-Fraktionen wurden beim Einengen ca 50 mg Amaropanin in farblosen Nadeln erhalten. Nach Umkristallisation aus  $\text{CHCl}_3$ /Benzol Schmp. = 178°.  $[\alpha]_{D}^{25} = 101.25^{\circ}$  (c 0.4739, MeOH) (Ber. für  $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_{12}$ : 61.05; H, 5.27, Gef.: C, 60.9; H, 5.68%, UV:  $\lambda_{\text{max}}$  (MeOH) 210, 315 nm ( $\log \epsilon$  4.39, 3.48) 240 nm Infl., IR (KBr): 3400 (OH-Bande), 1680 (Lactonbande), 1600 (konjugierte Doppelbindung), 1580, 1430 (phenol. Teil), 1270, 1195, 1065, 980 (Vinylgr.), 930, 890, 828, 810, 783, 700  $\text{cm}^{-1}$ . NMR (Aceton- $d_6$ , TMS int.St.) (ppm):  $\delta$  7.33 d (J 2 Hz) H-3; 2.6-2.8 m H-5, H-9; 5.33 d (J 1.5) H-1; 5.1-5.3 H-8  $\text{CH}_2$ -10; 1.55-1.9  $\text{CH}_2$ -6; 3.9-4.3  $\text{CH}_2$ -7; 3.2-4.2 H-3',4',5'; OH-3',4',6'; 4.34 d (J 8 Hz) H-1'; 4.8 t (J 8 Hz) H-2'; 7.42 t (J 8 Hz) H-5"; 6.66-6.94 m H-4",6",2",4",6"; 7.20 t (J 8 Hz) H-5"'; 8.26 OH-3"'; 11.23 OH-3"; MS von Amaropanin (70 eV/300  $\mu\text{A}/4 \text{ KV}$ , St. 200°, PT: 150°; SEV = 9.5; SIG =  $10^{-6}$ ; AIG =  $2 \cdot 10^{-7}$ , Res.: 1000, Direkteinlaß). Base peak  $m/e$  212,  $m/e$  212  $\rightarrow$  (-28)  $\rightarrow$  186 (Diphenyl); von Amaropaninpermethyläther, hergestellt durch Permethylierung mit  $\text{NaH}/\text{CH}_3\text{J}$  in DMF nach Hakomori, *J. Biochem.* **55**, 205, 1964;  $m/e$  445  $\rightarrow$  241, base peak  $m/e$  241. CD-Messung (0.9 mg in 1.975 ml Acetonitril 317 nm ( $\Delta\epsilon$  = +1.49), 252 (-7.96), 226 (+9.89). DC: Kieselgel 60  $\text{F}_{254}$ -Fa. Merck Aceton- $\text{CHCl}_3$  p.a.- $\text{H}_2\text{O}$  (8:2:0.5). Nachweis mit wässriger 0.1% iger Echtschwarzsalz K- (Fa. Serva) Lösung. Amaropanin ( $R_f$  = 0.68, rot). Amarogentin ( $R_f$  = 0.61 blau), Amarooswerin ( $R_f$  = 0.59 blau).

*Amaropaninpentaacetat*. 20 mg Amaropanin wurden mit je 1 ml  $\text{Ac}_2\text{O}$  und Pyridin 2 Tage bei Raumtemperatur stehen gelassen und dann in üblicher Weise aufgearbeitet. Die Reinigung erfolgte an einer Kieselgel-60-Säule mit  $\text{CHCl}_3$ -MeOH (99:1) als Eluiermittel. Aus  $\text{ÄtOH}-\text{H}_2\text{O}$  weißes Pulver vom Schmp. = 79°. MS: Amaropaninpentaacetat:  $M^+$  780, base peak  $m/e$  213,  $m/e$  109, 169, 229, 255, 289, 297, 501, 543, 585, 696, 738 (siehe Abb. 1 Zerfallsschema).

*Bitterwertbestimmung*. Die Bestimmung erfolgte nach den allgemeinen Vorschriften des Deutschen Arzneibuches Nr. 7, ed. 1968 (DBR) Seite 40, mit Chinin-HCl als Standard. 1 mg Amaropanin wurde in 10 ml  $\text{ÄtOH}$  gelöst (Verdünnung 1:10000) und daraus durch Weiterverdünnung eine Stammlösung hergestellt (Verdünnung 1:10000000). Bitterwert von Amaropanin: 1:20000000 (zum Vergleich Amarogentin 1:58000000 und Gentio-pikrin 1:12000).

*Anerkennungen*—Herrn Dr. Ch. Franz danken wir für die Beschaffung der Droge, Herrn Prof. Inouye (Kyoto) für die Vergleichssubstanzen Amarogentin und Amarooswerin, der Deutschen Forschungsgemeinschaft und der Pahlewi Foundation (Iran) für die gewährten Stipendien.